Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. P. Uhlenhuth)

Über den fermentativen Charakter der Vibrionen-Hämolysine

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
vorgelegt
der Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität
zu
Freiburg im Breisgau

von

Wilhelm Angstmann
aus Mannheim.

1936

Buchdruckerei Hellmut Fürderer, vormals Karl Henn, Freiburg im Breisgau.

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. P. Uhlenhuth)

Über den fermentativen Charakter der Vibrionen-Hämolysine

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
vorgelegt
der Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert-Ludwigs-Universität
zu
Freiburg im Breisgau

von

Wilhelm Angstmann
aus Mannheim.

1936

Buchdruckerei Hellmut Fürderer, vormals Karl Henn, Freiburg im Breisgau.

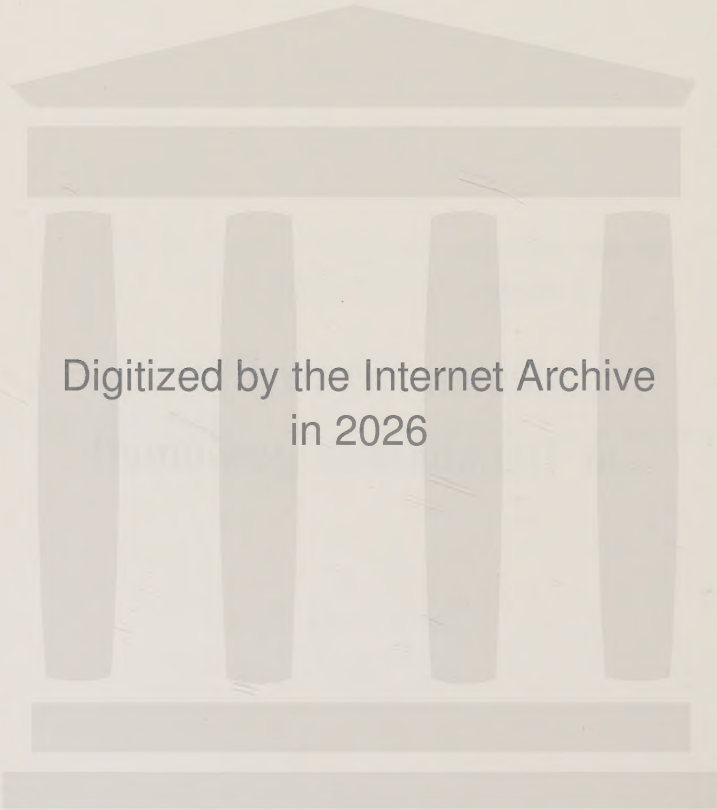
Gedruckt mit Genehmigung der medizischen Fakultät
der Universität Freiburg im Breisgau.

Dekan:
Prof. Dr. Wegner.

Referent:
Dozent Dr. E. Zimmermann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543125_0159

Pflanzen und Tiere bilden in ihrem Körper Fermente. Unter dem Begriff Ferment oder Enzym fasst man alle diejenigen Stoffe zusammen, welche chemische Vorgänge im Organismus in ihrem Ablauf beschleunigen oder hemmen, ohne in dem Ergebnis nachweisbar zu sein.

Trotz langer und mühevoller Arbeit ist es bis heute noch nicht gelungen über die Enzyme eine eindeutige und klare Vorstellung zu erlangen. Man gewinnt Fermentpräparate durch Ausziehen von Organbreien tierischer und pflanzlicher Herkunft mit geeigneten Lösungsmitteln und nachfolgender Reinigung, bei der man das grosse Adsorptionsvermögen der Enzyme ausnutzt. Eine absolute Reindarstellung von Fermenten ist infolge der letzterwähnten Eigenschaft noch nicht gelungen. Alle Präparate besitzen grössere oder kleinere Beimengungen von Eiweiss oder Salzen. Die Frage, ob man überhaupt den chemischwirksamen Bestandteil als solchen gewinnen kann, ist noch nicht entschieden.

Heute nimmt ein Teil der Forscher an, dass man die Fermente nicht als einzelne Substanzen betrachten muss, sondern als Systeme, bestehend aus einem Kolloid, das Eiweissnatur haben kann, und einem darauf haftenden, chemisch bestimmten Stoff, dem eigentlichen Enzym. Durch Entfernen des Kolloids verliert das Ferment seine Wirksamkeit, obwohl es noch chemisch vorhanden ist.

Daraus zieht neuerdings Willstätter den Schluss, dass das eigentliche Wirkungssystem, Ferment als chemisch bestimmter Stoff und zugehöriger Träger (Kolloid), sicherlich nur einen kleinen unbestimmten Teil des präparativ gewonnenen Materials ausmacht. Er nimmt weiter an, dass das gesamte typische Fermentsystem, also Wirkgruppe und Trägerkolloid zusammen, an grössere Komplexe bebunden ist, die eiweissartiger Natur oder Polyosen sein können. Im Verlauf von deren Abbau geht das eigentliche Enzymsystem, vermischt mit mehr oder weniger wertvollen Abbaustoffen, in Lösung. Es entfällt demnach jede Möglichkeit den kolloiden Träger der einzelnen Fermente irgendwie näher zu charakterisieren.

Alle fermentativ wirksamen Stoffe zeigen mehr oder weniger das Verhalten typisch hydrophiler Kolloide. Dazu gehören die Löslichkeit in Wasser, verdünnten Salzlösungen, Glyzerin; die Undurchgängigkeit durch semipermeable Membranen; der Tyndalleffekt.

Ausfallende Niederschläge und zum Teil auch feste Stoffe reissen fast immer durch Adsorption die in Lösung befindlichen Fermente mit. Dies gilt für: Calziumphosphat, Tonerde, Schwermetallsalze, Eiweiss, Kaolin, Kohle, Cholesterin, Fibrin. Aber auch Kolloide, Gele und Suspensionen zeigen Adsorptionserscheinungen. Diese sind spezifisch und umkehrbar. Neuere Arbeiten weisen darauf hin, dass es noch ungewiss ist, ob diese Adsorptionsvorgänge dem betreffenden Ferment oder dem jeweiligen Begleitstoff zuzuschreiben sind. Sehr oft ist es nicht möglich, eine Trennung von diesen Stoffen zu erzielen. Daher besteht immer die Möglichkeit einer Beimengung von Eiweiss oder Schwermetallsalzen.

Ganz besonders wird die Arbeit durch die Empfindlichkeit der Fermente gegenüber Änderungen in ihren Umweltsbedingungen erschwert.

Bei längerer Aufbewahrung verlieren die Präparate ihre fermentative Fähigkeit. Trockenpräparate sind haltbarer als Lösungen.

Das Temperaturoptimum der Fermentwirkung bewegt sich zwischen 30° und 50° C. Unter 0° C sind die Enzyme meist unwirksam. Alle sind thermolabil. Bei etwa 70° C, in Anwesenheit von Wasser, werden sie fast ausnahmslos zerstört. Nur wenige überstehen kurzes Aufkochen. In getrocknetem Zustand ertragen sie eine Erhitzung bis weit über 100° C.

Anorganische Säuren und besonders Alkalien vernichten schon in geringen Konzentrationen die Wirksamkeit der meisten Fermente. Viele organische Stoffe und Lösungsmittel schädigen ihre Fähigkeit mehr oder weniger stark. Manche Enzyme zeigen gegenüber verdünntem Alkohol geringe Löslichkeit, andere werden bereits bei niedrigen Konzentrationen erst gehemmt, dann zerstört. 96 %iger Alkohol, Äther und Azeton fällen sehr viele Fermente aus ihren Lösungen. Dazu eignen sich ebenfalls Salze, besonders Schwermetallsalze. Jedoch werden durch alle Fällungen die Enzyme in ihrer Wirksamkeit mehr oder weniger geschwächt. Gegen Giftwirkungen — Formaldehyd, Hydrazin, Sublimat und ähnliche — sind sie ganz besonders empfindlich. Antiseptika

wie: Chloroform, Toluol und Tetrachlorkohlenstoff, verhalten sich in vielen Fällen indifferent und eignen sich daher zur Keimfreihaltung der Fermentlösungen.

Sonnenlicht wirkt auf wässrige Enzymlösungen schädigend, ultra-violette Bestrahlung zerstört sie in kurzer Zeit.

Aus vielen dieser Eigenschaften ist eine Ähnlichkeit mit Eiweisstoffen festzustellen. Daher ist es nicht verwunderlich, dass man in älteren Arbeiten geneigt war, die Fermente in die Klasse der Proteide und besonders der Nukleoproteide einzureihen. Als Beweis führte man die Löslichkeitsverhältnisse und die Antifermentbildung im Organismus durch parenterale Einverleibung fermentativer Stoffe an.

In den Bakterien finden sich Enzyme der verschiedensten Art, besonders aber proteolytische und diastatische. In ihren physikalischen Eigenschaften unterscheiden sie sich oft wesentlich. Ziemlich widerstandsfähig gegen trockene Hitze sind einige peptonisierenden Bakterienfermente, zum Beispiel das des Vibrio Finkler-Prior, das 10 Minuten Erhitzung auf 120° — 140° C erträgt, während es bei 70° C in feuchter Hitze zerstört wird. Auch die meisten andersartigen Fermente kann man in trockenem Zustand weit höher erhitzen als in Lösungen, jedoch liegt die Grenze, bei der die ersten Schädigungen auftreten, wesentlich tiefer. Die Bakterienproteasen greifen vorwiegend isoelektrische Eiweisskörper an. Charakteristisch für sie ist die starke Hemmung der Proteolyse durch Natriumfluorid.

Unter den Bakterienausscheidungsprodukten nehmen die echten Hämotoxine oder Hämolysine, also solche, die unmittelbar auf das Blut wirken eine besondere Stellung ein. Es sind das Stoffe, die die Fähigkeit besitzen rote Blutkörperchen zu zerstören. Da die Reaktion, das Umschlagen aus der Deck-, farbe in die Lackfarbe, leicht feststellbar ist, sind sie schon vielfach untersucht worden. Ihre blutlösende Eigenschaft ist spezifisch, das heisst die einzelnen Hämolysine sind immer nur auf ganz bestimmte Blutsorten abgestimmt. Ferner sind sie thermolabil und tragen Antigencharakter. Nach den bisherigen Untersuchungen spezifischer Hämotoxine, unter anderem der von den El-Tor Vibrionen gebildeten, scheinen sie den eiweissähnlichen Kolloiden anzugehören, da sie gleiche chemische und physikalische Eigenschaften zeigen. Anwesenheit von Salzen

wirkt in kleinen Mengen fördernd, in höheren Konzentrationen wirken besonders Schwermetallsalze hemmend auf die Blutauflösung. Bakterientötende Gifte und Strahlungen zerstören die Hämolysine, jedoch sind diese widerstandsfähiger als die Bakterien und deren Sporen. Die hämolytische Fähigkeit ist nicht direkt an die lebende Substanz gebunden. Filtration durch bakteriendichte Filter schädigt die hämolytische Wirkung der Lösungen durch Adsorption sehr stark. All diese Eigenschaften machten es bereits wahrscheinlich, dass es sich bei den echten Hämolysinen um Bakterienfermente handelt.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll es nun sein, an Hand von Vibrionenhämolysinen einen weiteren Beitrag zur Frage des fermentativen Charakters dieser Bakterienausscheidungsprodukte zu liefern.

Zur Klärung der Frage des fermentativen Charakters der Vibrionen-Hämolysine wurden im Laufe dieser Arbeit solche, von El-Tor Vibrionen gebildete, in Bezug auf die hauptsächlichsten Enzymeigenschaften untersucht. Hierher gehören in erster Linie das Verhalten gegen: Lösungsmittel der verschiedensten Arten, Säure, Alkali, Fermentgifte, Widerstandsfähigkeit gegen trockene Hitze und Ultraviolett-Strahlung.

Um die enzymatische Wirkung der Hämolysine einwandfrei nachzuweisen, muss man alle Einflüsse des lebenden Zellplasmas auf die Blutauflösung ausschliessen. Daher müssen die Vibrionen vor der Untersuchung abgetötet oder von den Hämolysinen getrennt werden. Weiter ist es nötig auch im übrigen keimfreie Lösungen zu verwerten.

Der allgemeine Arbeitsgang in den Versuchen.

Der allgemeine Arbeitsgang in den Versuchen zur Gewinnung keimfreier hämolysinhaltiger Lösung zur Prüfung der Eigenschaften der Hämolysine war folgender: Zwei sterile Röhrchen mit je 5 ccm Pepton-Asparagin-Ammonlactat („PAA-Nährboden", Zimmermann 1932) wurden mit je einer Öse einer 24 Stunden alten Peptonwasserkultur von El-Tor Vibrionen (Stamm T 2) beimpft. Ein weiteres PAA-Röhrchen bleibt unbeimpft und dient als Kontrolle. Nach zwei- bis dreimal 24 stündigem Wachstum im Brustschrank sind, wie frühere Versuche ergaben, in den beimpften Röhrchen genügende Mengen Hämolysin gebildet. Nunmehr mussten die Vibrionen, um eine Wirkung der lebenden Substanz auszuschalten, abgetötet werden. Filtration scheidet

aus, da der grösste Teil der Hämolysine im Filter zurückbleibt. Bei der Abtötung der Vibrionen wurde ihre Empfindlichkeit gegen Eintrocknung ausgenutzt (Zimmermann). Die Inhalte der Röhrchen werden dazu in flachen Schalen durch leichtes Öffnen des Deckels bei 37° C steril zum völligen Eintrocknen gebracht und bleiben nach dem Eindampfen noch weitere 12 Stunden stehen. Das Trocknen geschah in den ersten Versuchen in einem Exsikator, in dem eine Luftpumpe ein Vakuum erzeugte, in den späteren Versuchen, bei denen mit grösseren Mengen gearbeitet wurde, in einem gesonderten Brutschrank, der nur zu diesem Zwecke diente und ebenfalls an eine schwach wirkende Wasserstrahlpumpe angeschlossen war.

Wie Sterilitätsproben ergaben, waren nach dieser Behandlung die Vibrionen stets abgetötet und eine Verunreinigung des Materials nur selten eingetreten. Aber in diesem Fall wurden die betreffenden Schalen aus dem Versuch ausgeschaltet. Nachdem auf diese Weise die Vibrionen abgetötet worden waren, konnten die in den Trockenrückständen enthaltenen Hämolysine auf ihre einzelnen Eigenschaften untersucht werden.

Zu diesem Zweck wurden diese gelblichen Trockenrückstände mit 5 ccm des betreffenden Lösungsmittels derart behandelt, dass das Mittel unter leichtem zeitweiligen Bewegen der Schale etwa eine halbe Stunde einwirken konnte. Dann wurde durch ein Papierfilter filtriert und es wurden beide, Extrakt und Rückstand, getrennt abermals eingetrocknet. Die danach erfolgte Wiederauflösung beider erfolgte mit isotonischer NaCl-Zitratlösung (0,68 % NaCl + 0,76 % Na-citrat), da destilliertes Wasser häufig eine Spontanhämolyse der zugesetzten Erythrozyten auslöste.

Zur Untersuchung auf vorhandene Hämolysine wurden diesen zweiten Lösungen 5 % defibriniertes Hammelblut zugesetzt und das Auftreten der Hämolyse nach Verbringung in den Brutschrank beobachtet. Die Auflösung des Blutes beginnt meist nach 3 bis 6 Stunden und ist bei dem wasserklaren Aussehen der Lösungen leicht zu beobachten.

Zur Kontrolle auf das Vorhandensein echter thermolabiler Hämolysine wird ein solches vermutlich Hämolysin-haltiges Röhrchen vor dem Blutzusatz eine Stunde auf 65—70° C erhitzt. Ein zweites, gleiches Röhrchen bleibt unerhitzt. Danach musste in der einen, nicht erhitzten Lösung eine Hämolyse auftreten und in dem anderen ausbleiben. Als weitere Kontrolle, — dass es sich bei den gefundenen Hämolysinen um Stoffe handelt, welche als Folge des Vibrionenwachstums aufgetreten sind, — wurde jeweils ein unbeimpft gebliebenes PAA-Röhrchen ebenfalls eingedampft und in destilliertem Wasser wieder gelöst. Es wurde in diesen wiedergelösten Rückständen nie eine Hämolyse beobachtet.

Diese beiden Kontrollen wurden der Raumersparnis halber in die wiedergegebenen Tabellen nicht aufgenommen, da nur nach dieser Richtung einwandfreie Versuche protokolliert wurden.

Löslichkeitsverhältnisse der Hämolysine.

In den ersten Versuchen galt es die Löslichkeitsverhältnisse der Hämolysine festzustellen. Es interessierte zunächst die Löslichkeit in Alkohol von verschiedener Konzentration, sowie in Äther, Azeton, Chloroform und Toluol. Was die Löslichkeit der Trockenrückstände betrifft, so lösten sie sich lediglich in 20 % bis 25 % igem Alkohol fast gänzlich auf; höhere Konzentrationen und die anderen Lösungsmittel taten dies nur mehr oder weniger stark.

Tabelle I.

Löslichkeitsverhältnisse der Vibrionen-Hämolysine in 96-, 75-, 60-, 50-, 40-, 25-, 20 % igem Alkohol, Äther, Chloroform, Toluol. Abgelesen nach 24 Stunden, bei Toluol nach 40 Stunden.

Lösungmittel:

Hämolyse tritt ein mit Lösung des	H_2O	Alkohol							Äther	Azeton	Chloroform	Toluol
		96 %	75%	60%	50%	40%	25%	20%				
Extrakt	+++	0	0	0	0	0	±	++	0	0	0	0
Rückstand	0	+++	0	0	0	0	0	±	+ ++	+++	+++	++

Es bedeuten: 0 = keine, ± angedeutete, + = leichte, ++ = starke +++ = völlige Hämolyse.

Das Ergebnis besagt: Die Vibrionen-Hämolysine sind in 96 % igem Alkohol, Äther, Azeton, und Chloroform unlöslich. Mittlere Alkoholkonzentrationen zerstören sie ganz, während niedrige Konzentrationen einen Teil zu zerstören scheinen, den Rest aber auflösen. Toluol löst die Hämotoxine nicht auf, schädigt aber stark.

Nach diesem Versagen der üblichen Lösungsmittel wurden Versuche mit Glyzerin als Lösungsmittel angestellt. Der Arbeitsgang wird, da Glyzerin in Brutschranktemperatur nicht abgedampft werden kann, folgendermassen geändert:

Die Lösung der ersten Eintrocknung mit Glyzerin erfolgt bei 37° C, die Zeit der Lösung wird auf etwa 35—40 Stunden

erhöht. Danach hat sich der Trockenrückstand anscheinend völlig gelöst. Es erfolgt nunmehr eine Fällung mit der fünf- bis sechsfachen Menge 96 % Alkohol, wobei sofort eine starke Trübung der Lösung eintritt. Bei schärfstem Zentrifugieren klärt sie sich völlig auf. Es schlägt sich ein reichlicher, gelbgrauer Bodensatz nieder, der noch zweimal mit 96 % Alkohol ausgewaschen wird. Nach dem Eintrocknen des Zentrifugensatzes findet sich noch eine Menge von ein bis zwei Stecknadelkopfgrösse vor. Sie ist von dunkler Färbung und leicht in Wasser und Zitrat löslich. Dieser Zentrifugensatz enthält vorwiegend Pepton und Hämolysine, während die Salze des Nährbodens fast vollständig in dem Glyzerin-Alkohol-Gemisch verbleiben. Die Weiterbehandlung ist nun wieder die gleiche wie in den vorhergehenden Versuchen.

Tabelle II.

Löslichkeitsverhältnisse der Vibrionen-Hämolysine in Glyzerin. Abgelesen nach 40 Stunden.

Lösungsmittel:

Hämolyse tritt ein mit Lösung des	H_2O	Glyzerin
Extrakt	+++	+++
Rückstand	0	0

Aus diesem Versuch geht hervor, dass die Vibrionen Hämolysine in Glyzerin löslich sind und mit 96 % igem Alkohol ausgefällt werden können. Wiederholte Versuche zeigten das gleiche Ergebnis. Sterilitätsproben ergaben die Keimfreiheit der Lösungen.

Verhalten gegen Säure und Alkali.

Zur Prüfung des Verhaltens gegen Säure und Alkali werden die oben erwähnten Hämolysin-haltigen Trockenrückstände in 5 ccm sterilem, destiliertem Wasser gelöst. Jeder Probe wird nun 1 ccm Normal-Schwefelsäure bezw. Kalilauge zugesetzt. Dabei treten keinerlei Niederschläge auf. Nach 30 Minuten langem Einwirken werden die Lösungen neutralisiert (gegen Lackmus). Je eine beimpfte Probe wird als Kontrolle eine Stunde im Wasserbad auf 65° bis 70° C erhitzt, eine zweite, gleichbehandelte bleibt unerhitzt. Dann erfolgt Zugabe von 5 % Hammelblut. Nach 24 Stunden

zeigt die Säure-Reihe eine leichte Hämolyse, während die Alkali-Reihe unverändert ist. (Siehe Tabelle III).

Wiedergelöste Trockenrückstände, denen Sublimat (0,2 %) und Natriumfluorid (0,3 %) zugesetzt waren, zeigten keine Blutauflösungen. Eine hemmende oder gar schädigende Wirkung von Natriumnitrit (0,2 %) konnte nicht beobachtet werden.

Tabelle III.

Verhalten der Vibrionen-Hämolysine gegen Säure, Alkali, Sublimat, Natriumnitrit, Natriumfluorid. Abgelesen: Säure und Alkali nach 24 Stunden, die übrigen nach 14 Stunden.

Hämolyse nach Behandlung des wässrigen Extraktes mit:

Kontrolle unbehand.	Normal- Säure	Normal- Lauge	Sublimat 0,2 %	Na-Nitrit 0,2 %	Na-F 0,3 %
+++	+	0	0	+++	0

Verhalten der Vibrionen-Hämolysine gegen ultraviolettes Licht.

In weiteren Versuchen wurde das Verhalten der Vibrionen-Hämolysine gegen ultraviolettes Licht beobachtet. Die eingedampften Rückstände wurden in sterilem, destilliertem Wasser gelöst und nun in weiten, offenen, flachen Schalen dem Licht einer Quecksilberquarzlampe ausgesetzt. Die Zeit war jeweils 30 Minuten, der Abstand 35 cm in der einen Versuchsreihe, bezw. 20—25 cm in einer zweiten. Jeweils eine Probe einer Versuchsreihe wurde nach der Bestrahlung zur Kontrolle eine Stunde auf 65—70° C erhitzt und dann sämtlichen Röhrchen 5 % Hammelblut zugesetzt.

Während die unbestrahlte Kontrolle eine völlige Auflösung der roten Blutkörperchen zeigt, ist eine solche bei der, aus 35 cm Entfernung bestrahlten Probe nach 24 Stunden gerade angedeutet, bei der aus 20 – 25 cm Entfernung bestrahlten Probe ist keinerlei Hämolyse zu beobachten; die Lösungen waren sämtliche keimfrei. Daraus geht deutlich hervor, dass die Vibrionen-Hämolysine durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zerstört werden.

Widerstandsfähigkeit gegen trockene Hitze.

Zum Schluss wurde in einem Versuch die Widerstandsfähigkeit gegen trockene Hitze geprüft. Eine acht Wochen alte,

trocken in einer Flasche mit Glasstopfen aufbewahrte Probe, die in Glyzerin gelöst und dann mit 96 % igem Alkohol gefällt worden war, wird in einer evakuierten Ampulle eingeschmolzen und zweimal 15 Minuten lang auf 100° C im Dampftopf erhitzt. Nach Lösen in Zitrat und Zusatz von 5 % Blut zeigt sich 24 Stunden später eine beginnende Hämolyse, die nach weiteren 24 Stunden deutlich hervortritt. Normalerweise tritt die völlige Hämolyse bereits nach 10—12 Stunden ein. Eine zur Kontrolle eine Stunde auf 65°—70° C erhitzte, gelöste Probe bleibt unverändert. Die Die Sterilitätsproben sind einwandfrei.

Tabelle IV.

Widerstandsfähigkeit der Vibrionen-Hämolysine gegen trokkene Hitze von 100° C.

Trockenhämolysin 2×15 Min. auf 100° C erhitzt:

Hämolyse	Probe I	Probe II
nach 8 Stunden	0	0
nach 24 Stunden	±	±
nach 48 Stunden	+	+

Der Rückgang der hämolytischen Fähigkeit dürfte wohl in erster Linie auf ein Altern der Hämolysine zurückzuführen sein. Es liegt aber auch möglicherweise eine gewisse Schädigung durch die Erhitzung vor. Diese Frage konnte wegen der geringen Materialmenge nicht weiter geklärt werden.

Vergleicht man die durch die einzelnen Versuche gefundenen Ergebnisse mit den Eigenschaften der Fermente, so kann man eine weitgehende Übereinstimmung feststellen. Während die positiven Eigenschaften, d. h. die spezifischen Wirkungen der einzelnen Enzyme je nach ihrem Charakter verschieden sind, stimmen die negativen, die gegen Umweltbedingungen empfindlichen, chemisch-physikalischen Eigenschaften, mehr oder minder überein.

Besonders hervorzuheben sind die Löslichkeitsverhältnisse. Wie bei der Mehrzahl der Fermente findet sich bei den Vibrionen-Hämolysinen Löslichkeit in Wasser, verdünntem Alkohol

und Glyzerin; ferner die Unlöslichkeit in 96 %igem Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform. Auch die Thermolabilität, die Giftwirkung von Sublimat, die Schädigung durch anorganische Säure und Alkali sprechen für den Fermentcharakter. Dass die Vibrionen-Hämolysine durch Toluol gehemmt oder geschädigt werden, spricht nicht gegen die Annahme eines Fermentes, sie deutet auf eine besondere Empfindlichkeit hin, was durch die teilweise Zerstörung durch 20% und 25%igen Alkohol ebenfalls bestätigt wird. Nach einer Arbeit von Bock 1932, in der besonders Fermente des Magendarmkanals untersucht wurden, tritt oft eine Hemmung der Enzymwirkung bereits bei sehr geringen Alkoholkonzentrationen ein, die dann bald in eine Schädigung umschlägt. Der einzige gegenteilige Befund ist das indifferente Verhalten von Natriumnitrit, das sonst als Fermentgift angesprochen wird. Ferner findet man Zerstörung der Enzymwirkung durch Alkohol in mittleren Konzentrationen, während 96%iger Alkohol sich zur Fällung eignet. Natriumfluorid, das in einer Konzentration von 0,3% in vielen Fällen zur Sterilerhaltung der Fermentlösung dient, hemmt die Vibrionen-Hämolysine vollkommen. Nach Versuchen von v. Groer ist diese Hemmung ein besonderes Charakteristikum für die Bakterienproteasen. Die Vernichtung der fermentativen Fähigkeiten durch ultraviolettes Licht findet sich bei fast allen Fermenten und ist auch bei den Vibrionen-Hämolysinen in ausgesprochenem Masse vorhanden.

Bemerkenswert erscheint ebenfalls ein Nebenbefund, der im Laufe der Arbeit einigemale festzustellen war. Es handelt sich um Versuche, bei denen das verwendete Blut nicht einwandfrei defibriniert war, sodass es in den Proben gerinnen konnte. Diese zeigten dann kaum eine Hämolyse. Weil sämtliche Versuche mehrfach durchgeführt wurden und ein Ausbleiben der Hämolyse nur in den Röhrchen mit den Fibringerinseln auftrat, dürfte der Vorgang auf Adsorptionserscheinungen der Vibrionen-Hämolysine an das Fibrin zurückzuführen sein.

Da sich bei allen Untersuchungen kaum Abweichungen der Eigenschaften der Vibrionen-Hämolysine von den allgemeinen Eigenschaften der Enzyme finden, ist die Wahrscheinlichkeit sehr gross, dass die, von den Vibrionen ausgeschiedenen Hämolysine den Bakterienfermenten angehören.

Zusammenfassung.

An Hand einer Reihe von Versuchen konnte gezeigt werden, dass die Eigenschaften der Vibrionen-Hämolysine weitgehendste Ähnlichkeiten mit denen der Enzyme aufweisen. Dies gilt besonders für die Löslichkeit in Glyzerin, die Fällung durch 96% igen Alkohol, die Schädigung durch spezifische Fermentgifte, die Thermolabilität und die Zerstörung durch ultraviolettes Licht.

Diese grosse Übereinstimmung lässt den Schluss zu, dass es sich bei den Vibrionen-Hämolysinen sehr wahrscheinlich um Fermente handelt.

Für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während der Arbeit sage ich dem Dozenten Dr. Zimmermann an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank.

Literatur.

Albrecht: Über Antiamylase, ein Beitrag zur Frage der Antifermente, Diss. München, Te H, 1922.

Bock: Über die Beeinflussung von Fermenten durch Äthylalkohol. Diss. Rostock, 1932.

Cohnheim: Chemie der Eiweisskörper, 1904, S. 223.

v. Euler: Chemie der Enzyme I, 1925, S. 286.

Friedberger u. Reiter: Kolle- Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg., Bd. I, 1912.

Gotschlich: Kolle-Wassermann, Hdb. d. pathog. Mikroorg., Bd. I, 1912.

Hoppe-Seyler: 164, 10, 1932.

Jordan-Falk: The knowledge of bacteriology and immunology. 1928.

Kolle u. Schürmann: Kolle-Wassermann, Hdb. d. path. Mikroorg., Bd. IV, 1912.

Kraus, Pribram, Prantschoff: Zentr. Bakt. 41, 1906.

Krauss, Pribram: Wien. Klin. Woch., 39, 1905.

Kraut: Untersuchungen über die Adsorption von Enzymen und anderen hochmolekularen Stoffen, Hab. München, 1925.

Kruse: Allgemeine Mikrobiologie, 1910.

Oppenheimer: Chemische Grundlagen der Lebensvorgänge, 1933, S. 160.
Die Fermente und ihre Wirkungen. 1913/25.
Grundriss der Physiologie. Bd. I, 1922. S. 149
Kolle-Kraus-Uhlenhut, Hdb. d. pathog. Mikroorg. Bd. II, 2, 1929.
Lehrbuch der Enzyme, 1925.

Pick: Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. I, 1912.

Tschermak: Allgemeine Physiologie. 1924, S. 76, 230 243.

Waldschmidt-Leitz: Die Enzyme. 1926.

Zimmermann: Zentralbl. f. Bakt. Erg. Bd. 127, 1932, S. 146 (Beiheft).

Lebenslauf.

Ich wurde am 2. Juni 1909 in Mannheim als Sohn des Diplom-Ingenieurs Leopold Angstmann und seiner Ehefrau Auguste geb. Boss geboren. Ostern 1930 machte ich mein Abitur an der Oberrealschule in Ludwigshafen am Rhein. Anschliessend bezog ich die Universität in Heidelberg, wo ich mich dem Medizinstudium zuwandte. Nach 5 vorklinischen Semestern machte ich mein Physikum in Heidelberg. Ein weiteres klinisches Semester verblieb ich noch daselbst und bezog dann die Universität Freiburg im Breisgau, wo ich im Herbst mein Staatsexamen zu machen gedenke.